

b-Zip 型転写因子 Nrf2 は宿主肺における癌細胞転移抑制因子である

著者	佐藤 大希
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第2748号
URL	http://hdl.handle.net/10097/50982

氏 名 ^{さとう}佐藤 ^{ひろのり}大希
学 位 の 種 類 博士 (医 学)
学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学 専攻
学位論文題目 b-Zip 型転写因子 Nrf2 は宿主肺における癌細胞転移抑制因子で
ある

論文審査委員 主査 教授 貫和 敏博 教授 山本 雅之
教授 小野 栄夫 教授 佐藤 靖史

論 文 内 容 要 旨

背景：転移性腫瘍は癌患者の生命予後を規定する重要な因子であり、発症メカニズムの解明と有効な治療法の開発が急務となっている。Nrf2 (NF-E2-related factor 2) は親電子性物質や酸化ストレスに対して、解毒第二相酵素群と抗酸化ストレス酵素群遺伝子の転写活性化を介して細胞を防御する転写因子である。このため、*Nrf2* ノックアウトマウス (*Nrf2*^{-/-}マウス) は酸化ストレスに対して脆弱であり、癌原物質を解毒する能力が低下しているため、各種臓器において化学発癌を発症しやすいことが知られている。一方で、原発性肺癌や肺癌細胞株において、*Nrf2* が恒常的に活性化することで、細胞増殖と抗癌剤耐性が促進されていることも知られている。しかし、癌細胞の浸潤と転移に対して、免疫系細胞を含む宿主細胞の *Nrf2* が有する機能については未解明のままである。私は *Nrf2*^{-/-}マウスでは、癌組織により誘導される酸化ストレスにより肺転移性腫瘍が増大する可能性が高いと考えた。

目的：担癌動物宿主の免疫系細胞を含む正常細胞の *Nrf2* が、癌の転移に与える影響を検証することにより、*Nrf2* の新たな機能を解明できると考えた。また、ヒトの生態に近いマウスを用いることで、現在の医療では根治不能である悪性腫瘍転移治療への応用を目指すことを目標とした。

方法：転移のプロセスを解析するには、癌細胞を大腿筋に投与し原発巣からの転移を観察する自然

転移モデルと、尾静脈から癌細胞を投与する実験的転移モデルの 2 種類の *in vivo* 実験法がある。上記仮説を検証するため、これら 2 種類の *in vivo* 実験法を採用し、野生型マウスと *Nrf2*^{+/+} マウス、そして *Nrf2* を恒常的に蓄積している *Keap1* (Kelch-like ECH associating protein 1) ノックダウンマウス(*Keap1*^{fl/fl} マウス)を使用し、それぞれのマウスが有する転移性肺腫瘍に対する感受性を検討した。更に、T 細胞抑制機能を有する骨髄由来抑制細胞 (Myeloid Derived Suppressor Cells; MDSCs) を、担癌マウス骨髄より Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) を用いて分離し、その細胞数と、細胞内に蓄積する活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) のレベルを検討した。

結果：上記 2 種類の *in vivo* 実験法において、*Nrf2*^{+/+} マウスで有意に転移性肺腫瘍が増加し、対照的に *Keap1*^{fl/fl} マウスにおいては転移の抑制が認められた。担癌 *Nrf2*^{+/+} マウス骨髄では、MDSCs 細胞数が増加し、細胞内の活性酸素種の蓄積の増加が認められた。

考察：上記実験結果から、宿主細胞の *Nrf2* は癌転移抑制において重要な機能を有することが示された。MDSCs では細胞内の ROS の蓄積により、その T 細胞抑制機能が亢進することが知られている。担癌 *Nrf2*^{+/+} マウス MDSCs において ROS の著明な蓄積をみとめたことから、*Nrf2*^{+/+} マウスにおいては腫瘍傷害性 T 細胞の機能が抑制されている可能性があると考えられた。

結論：担癌動物宿主肺の正常細胞における *Nrf2* 活性化が、転移性肺腫瘍の増大を抑制することを示した。逆に宿主肺における *Nrf2* 活性の低下は腫瘍促進効果を誘導することが示された。*Nrf2* は宿主における新規の癌転移抑制遺伝子であり、宿主細胞の *Nrf2* 機能を活性化することが、癌転移に対する有効な治療となることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題名 b-Zip 型転写因子 Nrf2 は宿主肺における癌細胞転移抑制性因子である

所属専攻・分野名 医科学 専攻・ 呼吸器病態学 分野

氏名 佐藤 太希

癌肺転移は肺癌以外にも多くの固形腫瘍で見られ、患者の生命予後を規定する。Seed/Soil 説はじめ転移メカニズムの解明、治療法の開発は急務である。本学位研究で取り上げた Nrf2 (NF-E2-related factor 2) は親電子性物質や酸化ストレスに対し、解毒第二相酵素群と抗酸化ストレス酵素群遺伝子の転写活性化を介して細胞を防御する転写因子である。Nrf2 ノックアウトマウス (Nrf2 ^{-/-}) は、①酸化ストレスに脆弱、②癌原物質解毒能力低下、③各種臓器の易化学発癌発症等が知られる。また、原発性肺癌や肺癌細胞株では、Nrf2 の恒常的活性化を帰結する各種変異が、細胞増殖と抗癌剤耐性を促進する。本学位論文は Nrf2 ^{-/-}マウスを用い、癌組織誘導酸化ストレスにより肺転移性腫瘍が増大する可能性を、免疫系細胞等宿主細胞の Nrf2 機能との関連で検討したものである。

方法：

- ① 皮下移植と血行転移の 2 種類の in vivo 転移実験法を採用し、野生型マウスと Nrf2 ^{-/-} マウス、さらに恒常的 Nrf2 蓄積をみる Keap1 (Kelch-like ECH associating protein 1) ノックダウンマウス (Keap1 ^{f/f}) を使用し、転移性肺腫瘍に対する感受性を検討した。
- ② T 細胞抑制機能を示す骨髄由来抑制細胞 (Myeloid Derived Suppressor Cells; MDSCs) を、担癌マウス骨髄より Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) で分離し、その細胞数と活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) のレベルを検討した。

結果：

- ① 上記 2 種類の in vivo 実験法において、Nrf2 ^{-/-} マウスで有意に転移性肺腫瘍が増加し、対照的に Keap1 ^{f/f} マウスにおいては転移の抑制が認められた。
- ② 担癌 Nrf2 ^{-/-} マウス骨髄では、MDSCs 細胞数が増加し、細胞内の活性酸素種の蓄積増加を認めた。

以上の結果は本学位論文が、

- ① 宿主細胞の Nrf2 は癌転移抑制において重要な機能を有する。
- ② 担癌 Nrf2 ^{-/-} マウス MDSCs の ROS 蓄積の事実は、Nrf2 ^{-/-} マウスでは腫瘍傷害性 T 細胞機能抑制の可能性を示唆する。

を明らかにし、宿主肺 Nrf2 活性が新規宿主癌転移抑制遺伝子であり、宿主免疫系細胞 Nrf2 機能活性化が癌転移治療の有望な選択肢であることを示した点で優れている。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。